ژمارە (١)

توێژینەوەی خۆماڵی

2022

دیاریکردنی ڕۆشنە شەبەنگیانەی ڤیتامین بی١ (هایدرۆکلۆریدی ثیامین) لە کردەی ئامادەکردنی دەرماندا بە کارلێکی لێکدان لەگەڵ ترشی سەلفەلینیکی دایۆزێنراو



تـــوێـــژەران

د. ڕێبوار عومەر حەسەن

د. یوسف جەلال عــەزیـز

توێژینەوەی خۆماڵی

ژمارە (١)

ناونیشانی توێژینەوە: دیاریکردنی ڕۆشنە شەبەنگیانەی ڤیتامین بی١ (هایدرۆکلۆریدی ثیامین) لە کردەی ئامادەکردنی دەرماندا بە کارلێکی لێکدان لەگەڵ ترشی سەلفەلینیکی دایۆزێنراو.

توێژەران: د. ڕێبوار عومەر حەسەن و د. یوسف جەلال عەزیز

زانکۆی سەلاحەدین - کۆلێژی زانست - بەشی کیمیا

بەرواری بڵاوبوونەوە: ٢٠٠٥\١١\١٥

بڵاوکراوەتەوە لە گۆڤاری تکریت بۆ زانستە دەرمانییەکان

Tikrit Journal oJ Pharmqceuticql Sciences

وەرگێڕان: رضوان جمال

Abstract - پـــوخـــتـــه

بیردۆزی ڕۆشنه شەبەنگ بیردۆزێـــکی سادە ورد و هەستیارە بـــۆ دیاریکردنی ڤیتامین بی1 (هایدرۆکلۆریدی ثیامین) لەنێو ئاوە گیراوەکەیدا. بیـــردۆزەکە دەوەستێـــتە سەر بەدایـــۆزاندنی ترشی سەلفەنیلیك بە لـــێکدانی لەگەڵ هایدرۆکلـــۆریدی ثیامین بە هەبوونی هایدرۆکسیدی سۆدیۆم بۆ پێکهاتنی بۆیەیەکی قاوەیی – سورباوی لەئاو تواوە کە جێگیرە و ئەوپەڕی هەڵمژینی دەگاتە (λmax=490nm). هەڵمژینی مۆلاری و بەهای هەستـــیاری ساندڵ یەك لەدوای یەك 7.74×10^3 (L/mol.cm) و 0.045 (µg. cm^{-1}).

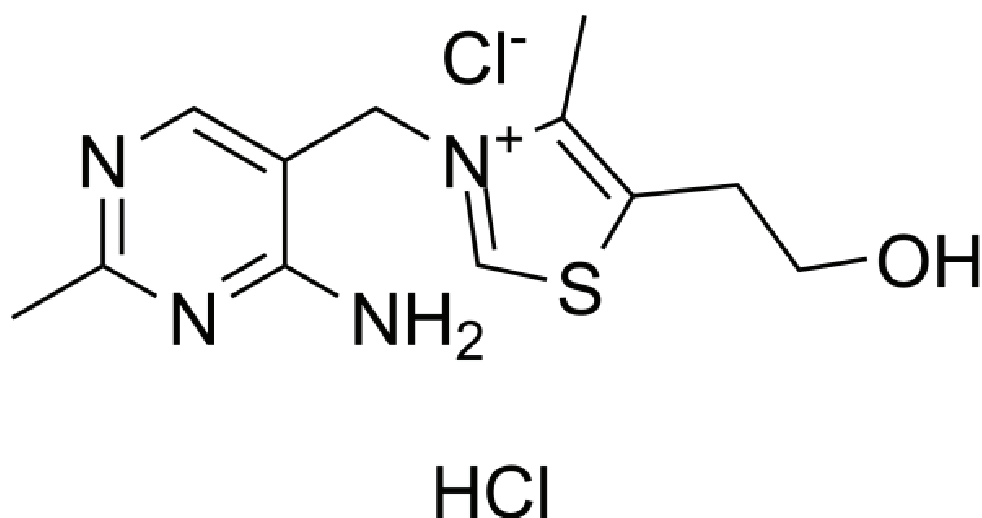
شێوازی ئەنجامدانەکەی پەرەی پێدراوە بۆ قەبارەیەك لە هایـــدرۆکلۆریدی ثیامین و هەنـــدێ کردەی ئامادەکردنـــی دەمـــانـــیـــی، کە ورد و ڕێـــك و هاوشێوەیە بەپێی بیردۆزی پێوانەیی (دەستوری دەرمانی بەریتانی - British pharmacopoeia).

Introduction - دەستپێك

هایدرۆکلـــۆریـــدی ثیامین (ڤـــیتتتامین بی1) ((شێوەی 01)) لە کۆمـــەڵە ڤیـــتـــامینەکانی بی یە کە لە ئاودا تـــواوەیە و بە گشتی بۆ تەندروستی و جەستە دروســـــتی گیانەوەران پـــێـــویستە. بەراورد بە گـــیـــانەوەرە پێگەیشتووەکان کە پێویستە بۆیان، وە زیاتر پێویست تر دەبێ لە هـــەندێ لە قۆناغە دژوارەکانی سوڕی ژیان وەك گەشەکردن، سکپڕی و شـــیر پێدان.

زۆربەی ڤیتامینەکانی کۆمەڵەی بی بەشدارن لە پێکـــهاتەی خۆراکەکان و بـەرهـەمـهـێـنـانـی یاخـود گـۆڕیـنی وزەی نـێو جەستە. لەم کردارانەدا ڤیتامینەکانی بی لەلایەن گیانەوەرانەوە بەکاردەبـــرێـــن بۆ دروستکردنی هاوەڵ-ئەنزیمەکان[1].

ڤیتامین بی1 خۆراکە مادەیەکی پێویستە بۆ مـرۆڤ بۆ چالاکی هاوسەنگی ئاسایی و پاراستنی لە نەخۆشی بێری بێری. کەسێك ئاساییانــە ئەم خۆراکە مادەیە دەست دەخات لە خواردنە سروشتی و پتەوکــــراوەکان (Fortified foods)، هەروەها ئەم ڤیتامیە پێوستە دەکرێ دەســــــت بخرێت لە ئامادە کردنە دەرمانییە جیاوازەکان کە هایدرۆکلۆریدی ثیامینیان تێدایە[2].



شێوەی 1: پێکهاتەی هایدرۆکلۆریدی ثیامین

زۆربەی بیرۆزەکانی دیارکردنی ڤیامین تاقیکراونەتەوە و پەرەیان پێـــدراوە، زۆربەیان پەیوەستن بە بیردۆزەکانی:

مایکرۆبی - Microbal [3]

کرۆماتۆگرافی گاز - gas chromatograpic [4]

تەکنیکی کرۆماتۆگرافی شلی ئاست بەرز - HPLC [5]

ڕۆشنە شەبەنگپێوی - spectrophotometric [6]

درزییە تێکردنی ڕۆشنە شەبەنگپێوی -[7-9] flow injection spectrophotometric

دەرزییە تێکردنی لێڵپێویی - flow injection turbidimeter [10]

فلۆرۆشەبەنگپێوی - spectrofluromicrometric [2,11]

تەکنیکی کیمیایی ڕووناکی - chemiluminesce [12,13]

وە بیردۆزی تواناپێوی - potenliometric method [14,15]

ئەم لاپەڕەیە وەسفی پەرەسەندنی نموونەکە، هەمــەجۆری و هەستـــیاری بیردۆزی ڕۆشنەشەبەنگپێوەکە دەکات بۆ دیاریکردنی بڕیی لە ڤـیتامـــینی ئاماژەپێکراو لە ئامادەکردنە دەرمانییەکاندا. ئەم بیردۆزە دەوەستـێتە سەر ترشی سەلفەلینیکی دایۆزێنراو بە لێکدانی لەگەڵ ڤیامین لە ناوەنــدێـکی تفتدا کە بەرهەمێـــــکی ڕەنگدار دروســـــت دەکات. خوێنـــدنەوەیەکی بەراوردکاریانەی ئەم تەکنیکە لەگەڵ بیردۆزە سەرەکیەکە خرا ڕوو.

Experimental - تاقــــیــــكارییەكان

Apparatus - ١- پێداویستیەكان

ئامێری ڕۆشنەشەبەنگپێو UV-Visible model 4085 jenway، پێــــــوەری هایدرۆجینی spH 3305 jenway، پێكبەستراوی جەمسەری pH، تێكدەری موگناتیسی gallenkamp بەكارهێنرا.

Reagent and materials - ٢- ناسەرەوە و مادەكان

هەموو مادە كیمیاییەكان بەكارهێنراون بۆ شیــــكاری پلەبەندی ناسەرەوە كان جگە لەوانەی كــــە ئامــــاژەیان پێدراوە، وە ئاوی دووجار دڵــۆپێــنــراو بەكارهێنراوە لە هەموو جارەكاندا. ترشــــــی سەلفەلینیك (شوچارتد میونخ ئەڵمانیا)، نیترەیتی سۆدیۆم (فلوكا)، یوریا (ئینگلتەرا)، هایــــدرۆكــــسیدی سۆدیۆم (مێرچ ئەڵمانیا)، ترشی هایدرۆكلۆریك (فلوكا)، وە لە شــــوێنەكانی خۆیانەوە بەشێوەی ژەم Dosage وە دەستخراون.

Standard preparations - ٣- ئامادەكردنی پێوانەیی

گیراوەی بنچینەیی – $500\ \mu g.ml^{-1}$ (stock solution) هایــدرۆكلــــــۆریدی ڤیامین ئامادەكرا بە كێشكردنێكی وردی (125mg) لە ڤیتامین، توێنرایەوە لەنێو ئاوی دڵۆپێنراو و تا (250ml) ڕوونـــــكرا –diluted لەنێو كەمـــــۆڵەی قەبارەیی.

٤- هەنگاوەکان بەگشتی - General procedure

گواستنەوەی (2ml) لە (1M) ترشی هایدرۆکلۆریك بۆ نێو کەمۆڵـەیەکی قەبارەیی (50ml) ، لەگەڵی (0.5ml) لە 0.4% گیراوەی نیترەیتی سۆدیۆم و ساردکردنەوەی لەنێو دەفری سەهـۆڵـیدا بۆ مـاوەی 5 خـولەك. وە زیاد کردنی (4ml) لە 2% گیراوەی یوریا، شڵقاندن و بەجێهێشتنی بۆ 3 خولەك تاوەکو دەوەستێ، زیادکردنی (0.05M) تەشی سەلفینیك. شڵـقـانـدنی و پاشان زیادکردنی (0.1-3.5ml) لە هایدرۆکلۆریدی ثیامین (µg.ml-1 500) یان بڕێکی گونجاو لە ئامادەکراوی دەرمانی و دواتـر زیـــادکـردنی 30% گیراوەی هایدرۆکسیدی سۆدیۆم. شڵقاندنێکی چاك و پاشان ڕوونبکرێ تا قەبارەیەك بە ئاوی دڵۆپێنراو. پێوانەی هەڵمژین بکرێ لە 1سم خـــانـە لە بەرانبەر ناسەرەوەیەکی بەتاڵ لە درێــژە شەپــۆڵی بـــەرزترین هەڵــمژین (λmax=490nm) هەڵمژۆکەکە پێچەوانە هاوڕێـــــژەیە لەگەڵ خەستی کۆتایی تاوەکو هێڵکاری پێوانەیی -calibration curve دەستبخرێت.

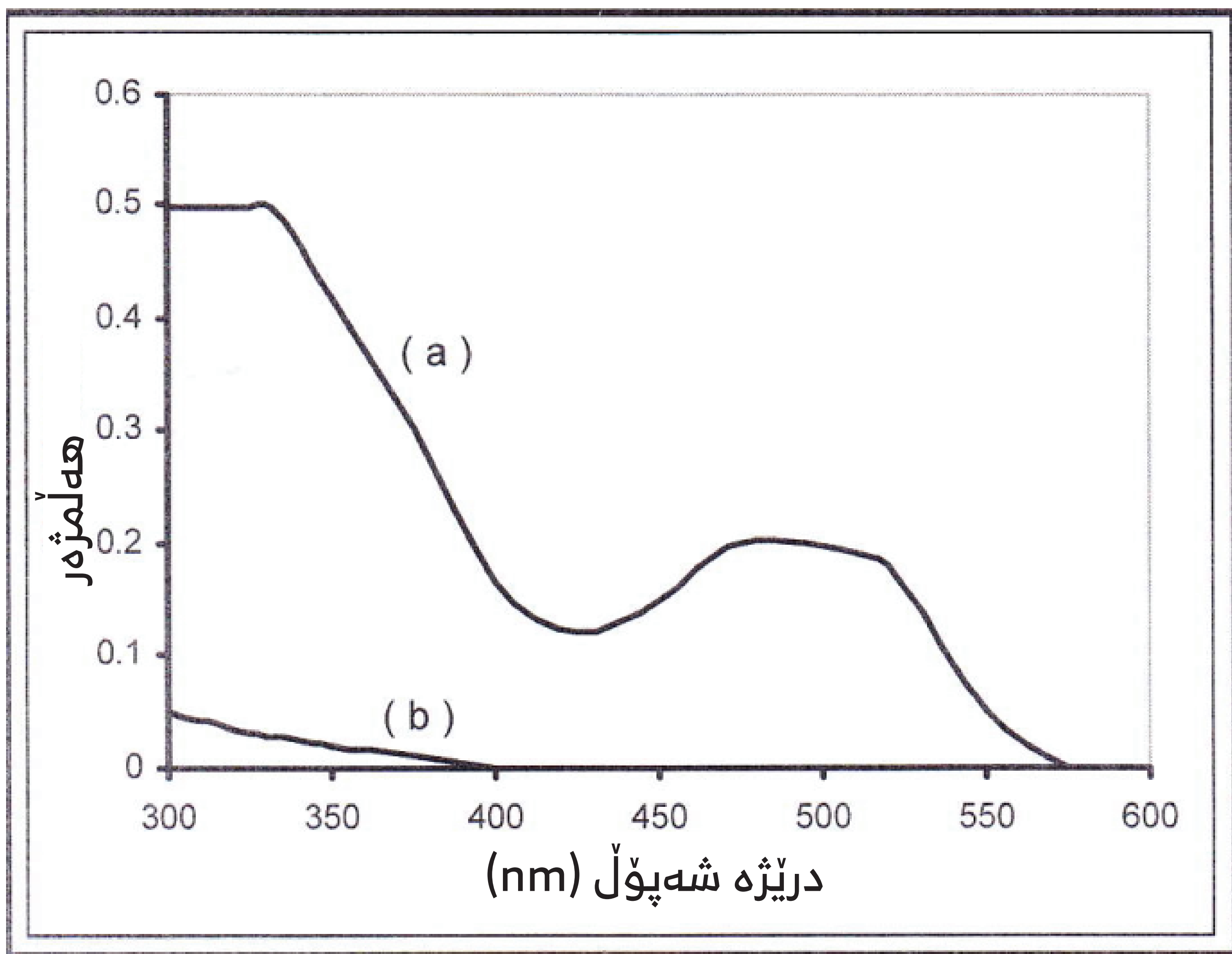
جێبەجێکردنەکان - Application

أ- شیکاری دەنکە حەپ - Analysis of tablet

کێشکردن و شکاندنی 4 حەپ. توانەوەی بارستەیەکی زانراو (87.5mg) لە تۆزەکە، هاوتاکردنی تا (50mg) لە دەرمانە پاکەکە لەنێو ئاوی دڵۆپێنراودا، پاڵاوتن و دڵۆپاندنی تا مل لەنێو کەمۆڵە قەبارەییەکە. گواستنەوەی (1ml) لە گـــیراوەکە بۆ نـــێـــو کـــەمۆڵەیەکی قەبارەیی (50ml) و بەردەوام بوون لەسەری وەك ئەوەی کە باسکرا لە هەنگاوەکان بە گشتی.

دەرزی لە 5 بوتڵ وەردەگیرێ و تێکەڵ دەکرێ، دواتر (1ml) لەم گـــیراوەیە دەگوازرێتەوە بۆ کەمۆڵەیەکی قەبارەیی (100ml) و قەبارەکەی تا نیشانە کە بە ئاوی دڵۆپێنراو تەواو دەکرێت. گواستنەوەی (1ml) لەم گیراوەیە بۆ نێو کەمۆلەیەکی قەبارەیی (50ml) و بەردەوام بوون لەسەری وەك ئەوەی باسکرا لە هەنگاوەکان بە گشتی.

شێوەی (2) شەبەنگی بۆیەی ئازۆ و ناسەرەوەی بەتاڵ نیشان دەدات.درێژە شەپۆڵی بەرزترین هەڵمژین (λ_{max}) لە 490نانۆمەترە، تایبەتمەندیەتی بۆیەی ئازۆ لە هەموو پاشکۆی تاقیردنەوەکاندا بەکارهێنرا.



شێوەی 2: شەبەنگە هەڵمژینی (a)

11 (µg.ml-1) لە هایدرۆکلۆریدی ثیامین کارلێکی پێکراوەك ئەوەی کە لە هەنگاوەکاندا باسکرا بەرامبەر ناسەرەوەی بەتاڵ Blank reagentوە (b) ناسەرەوە بەتاڵەکە لەگەڵ ئاوی دڵۆپێنراو.

Results and discussion - ئەنجام و تووێژ

Optimization of experimental variables - ١- باشترین بەهای تاقیکارییەکە

زنجیرەیەك لە تاقیکاری ئەزمونکرا بۆ دانانی باشترین بەهای شیکاری. پارامیتەرەکە باشتر بکرا بە گرتنەخۆی خەستی ناسەرەوەکە و کاریگەری کات لەسەر ڕەنگی بەرهەمەکە.

Effect of sodium nitrite - أ- کاریگەری نیترەیتی سۆدیۆم

ترشی سەلفەنیلیك بە بڕی زیادەی ترشی نیترۆز دایۆزێنرا. بەڵام کاریگەری زیاد لە پێویستی جێگیری هەیە بۆ ڕەنگ و پێویستە لەگەڵ یوریا لاببرێت، کە کارناکاتە سەر بەرهەمەکە. خشتەی (1) نیشانی دەدا کە (1.4ml) لە 0.4% (w/v) نیترەیتی سۆدیۆم بەسیەتی بۆ بەدایۆنایزکردنی ترشی سەلفەلینیك.

خشتەی 1: کاریگەری 0.4%ی نیترەیتی سۆدیۆم

قەبارەی نیترەیتی سۆدیۆمی زیادکراو (ml)	0.0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0	1.2	1.4	1.6	1.8
هەڵمژەر	0.000	0.005	0.008	0.010	0.086	0.100	0.150	0.438	0.428	0.420

ب- كاريگەری ترشی سەلفەلینیك -Effect of sulfanilic acid

دوای ڕێكستنی خەستی نیترەیتی سۆدیۆم لە مل لە 0.4% (w/v). قەبارەی جیاواز لە (0.05M)گیراوەی ترشی سەلفەنیلیك بەكارهێنرا. لە ساتــێـكدا پارامیتەرەكانی دی بەشێوەی نەگۆڕ مانەوە لە هەنگاوە گشتیەكان.

ئەو ئەنجــامەی بەدەســتــهات (خشتەی 2) دەرخەری ئــەوەیە بڕی (5ml) لە (0.05M) تــرشی سەلفەنـیلیك زۆربــاشــە و لە تەواوی پاشــكۆكانی تاقیكاریەكە بەكارهات.

خشتەی 2: كاریگەری (0.05M)ی ترشی سەلفەلینیك

قەبارەی ترشی سەلفەلینیك (ml)	0.0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
هەڵمژەر	0.00	0.108	0.231	0.321	0.403	0.440	0.425	0.410	0.406	0.402

ج- كاریگەری هایدرۆكسیدی سۆدۆم Effect of sodium hydroxide

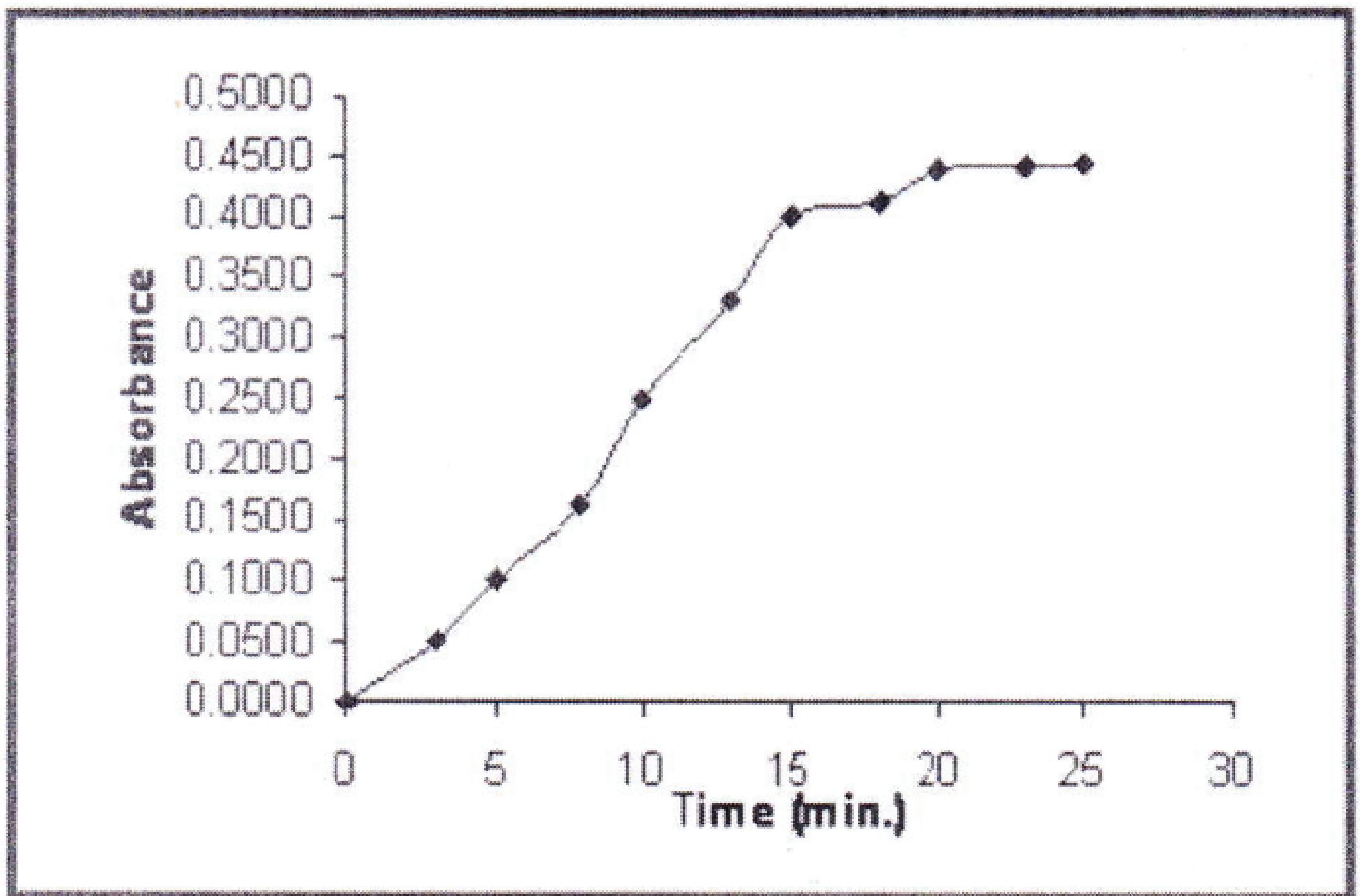
خەستی ئەو تفتەی كە بەكارهات لە كارلێكی لێكدان كاریگەری خــستــە سەر ڕێكی بەهاكان. كارلێكی خوێی دایەزۆنـیـۆم لەگەڵ ڤیــتــامین بی1 پێویستی بە (5ml) لە 30% هایدرۆكسیدی سۆدیۆمە تاوەكــو ڕەنگــێـكی تەواو بەرهەمبێ. خەستی كەمتر ڕەنگێكی ناتەواو بەرهەم دێنێ، وە لەوە زیاتر جێگیری ڕەنگەكە نزم دەكات. خشتەی 3 ئەم كاریگەرییــە نـــیشان دەدات.

خشتەی 3: کاریگەری %30ی هایدرۆکسیدی سۆدیۆم

قەبارەی هایدرۆکسیدی سۆدیۆم (ml)	0.0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
هەڵمژەر	0.000	0.016	0.256	0.386	0.412	0.442	0.430	0.321	0.302	0.290

د- کاتی دروست بوونی بۆیەکە - Time of dye formation

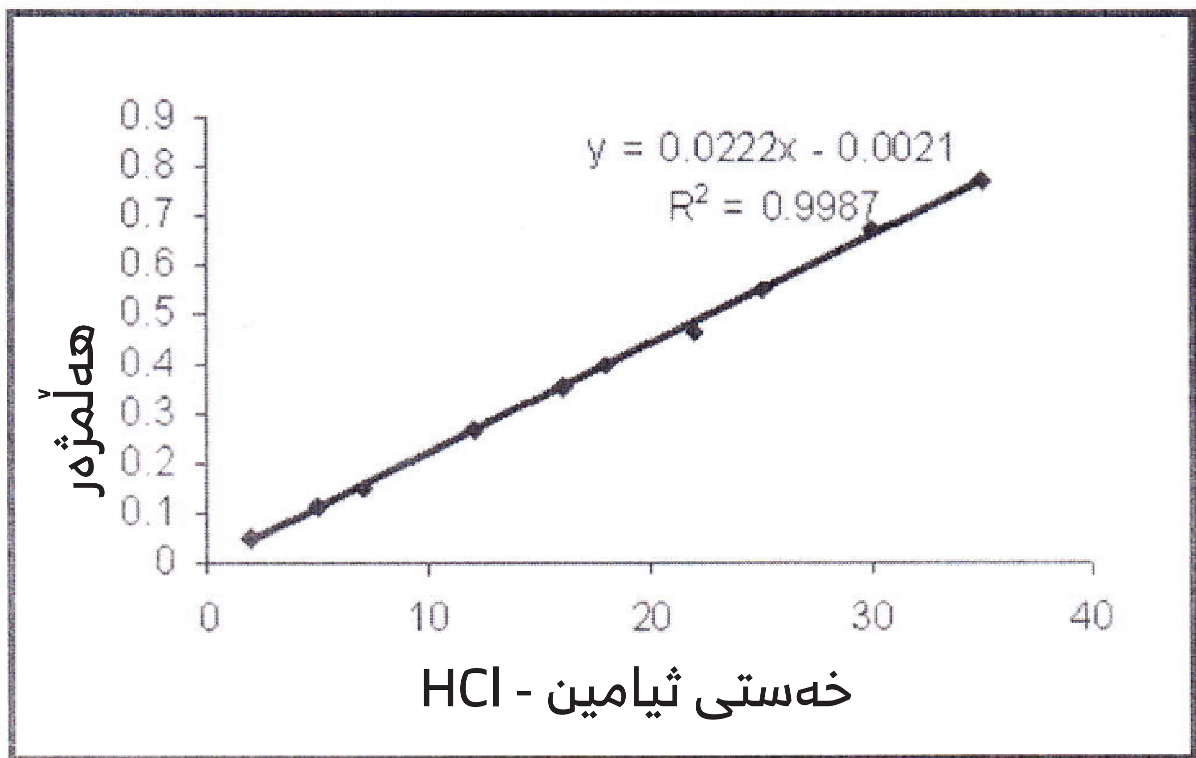
شێوەی (3) زیادبوونی کاتەکە بۆ مـــاوەی 20 خولەك نیـــشان دەدات. لە پلەی گەرمی ژووردا کە پێویستە بۆ ئەوەی بەرهەمـــەکە ڕەنگێکی تێری هەبێت، ڕەنگی بەرهەمهاتوو بۆ ماوەی زیاد لە 24 کاتژمێر جێگیرە.



شێوەی 3: کاریگەری کات لەسەر ترشی سەلفەلینیکی دایۆزێنراو لەگەڵ هایدرۆکلۆریدی ثیامین.

٢- هێڵکاری پێوانەیی - Calibration graph

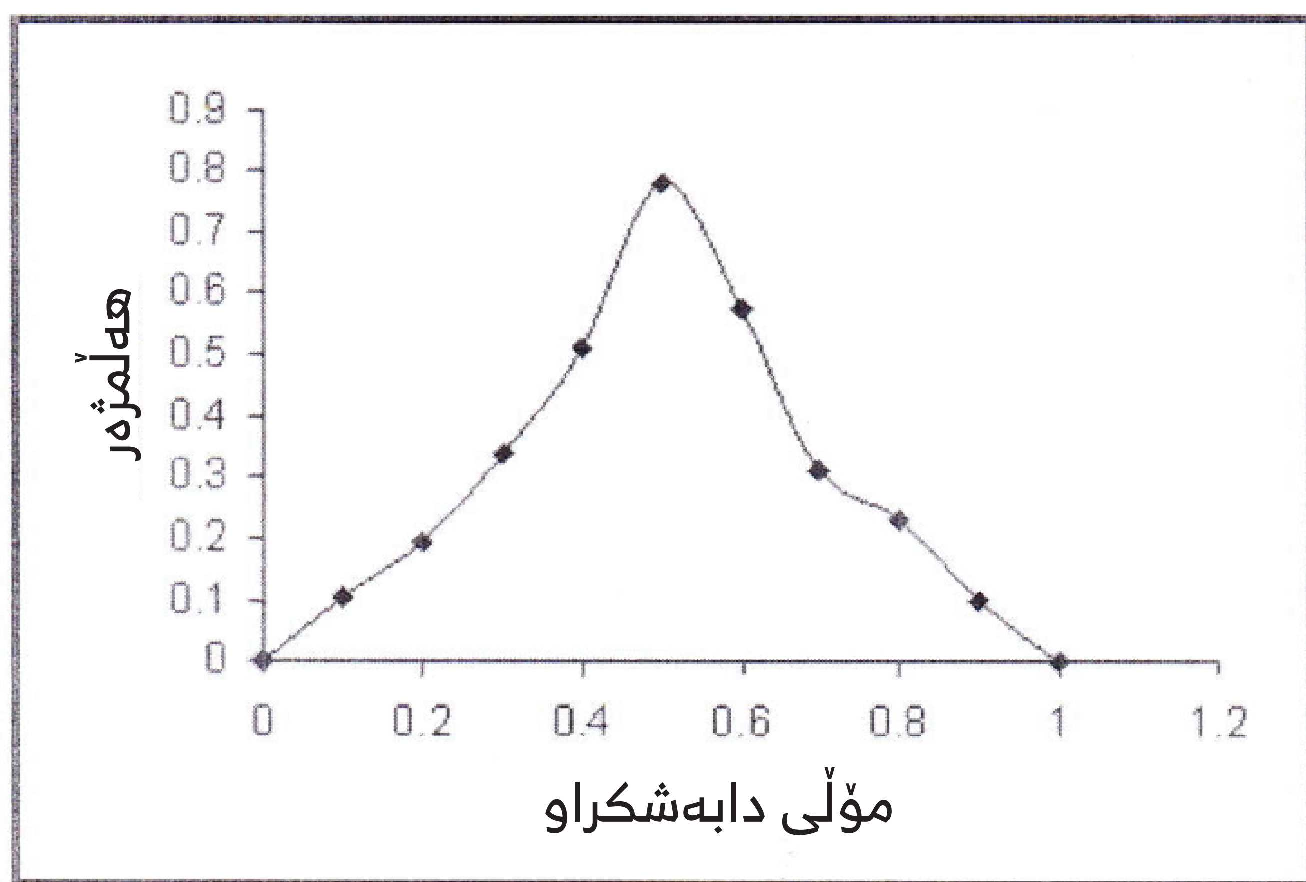
لە بارێکی زۆرباشدا ((2ml) لە (1M) ترشی هایدرۆکـــلۆریـــك، (104ml) لە 0.4% (w/v) نیترەیتی سۆدیۆم، (5ml) لە (0.05M) گیـــــراوەکانی ترشی سەلفەنیلیك بڕی جیایای لە خەستی ڤیـــتامین تێدایە کە بە ڕوونکردنێکی گونجاوی گیراوە بنچینەییەکە گۆڕینی بۆ ڕێـژەی (2-35g.ml-1µ) بەهۆی (5ml) لە 30% هایدرۆکسیدی سۆدیۆم). هێڵە گـــەڕاوەکە دەستخراوە بە پەیوەندی هایدرۆکلۆریدی ڤیامینەکە و هەڵمـــژەرەکە. لە شێوەی (4)دا نیشان دراوە.



شێوەی 4: هێڵکاری پێوانەیی دیاریکردنی هایدرۆکلۆریدی ڤیامین.

٣- ژمێرکاری کیمیایی بەرهەمەکە - Stoichiometry of the product

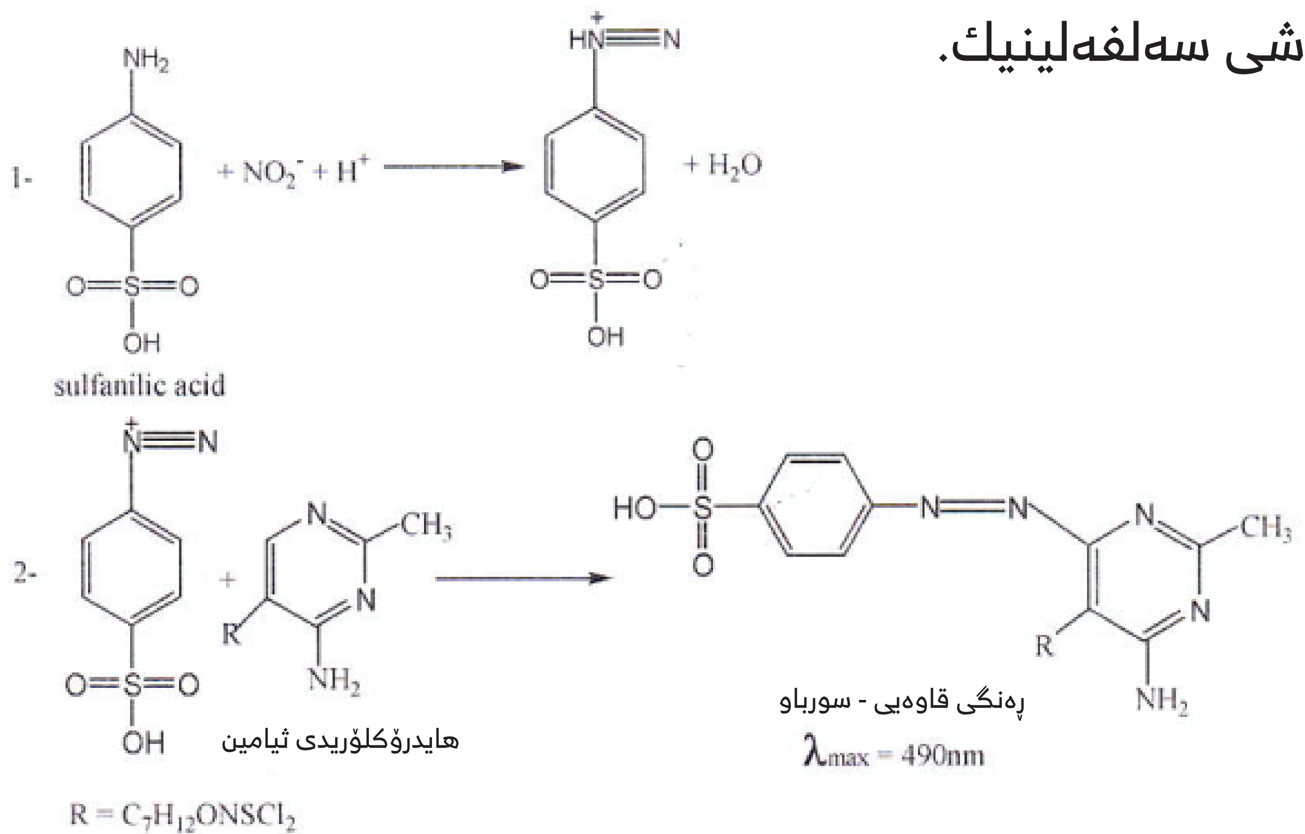
قەبارەی تەواوکاری (0.05M) گیراوەی دایۆنێراوی ترشی سەلفەنـیلیك و هایدرۆکلۆریدی ثیامین (10+0، 9+1، 8+2، 7+3 ... 1+9) یەك لەدوای یەك تاقیـــکرانەوە لەگـــەڵ (4ml) لە 2% (w/v) یوریا و (4ml) لە 30% (w/v) هایدرۆکسیدی سۆدیۆم لەنێو کەمۆڵەیەکی قەبارەیی (50ml) و گیراوەکە تا نیشانەکە بە ئاوی دڵۆپێنراو تەواوکرا. بەهای هەڵمژۆکەکە بۆ هەریەك لە گیراوەك پێورا و لەگەڵ مۆڵی دابەشکراو Mole fraction وێـنەی بەیانی بۆ کێشرا. ڕێژەی مۆڵی هایدرۆکلۆریدی ثیامیـــن و ترشی ســـەلفەنیلیك دەرکەوت 1:1 (شێوەی (5)).



شێوەی 5: بەردەوامی جیاوازی هێڵکاریەکە لە نێوان هایدرۆکلۆریدی ثیامین و ترشی سەلفەلینیك، هەریەکەیان (0.05M).

٤-میکانیزمی ڕێتێچوو - Possible mechanism

میکانیزمی ڕێتێچوو بۆ کارلێکی ترشی سەلفەنیلیکی دایـــۆزێنراو لەگەڵ ڤیتامینی داواکراو لە هێڵکاری scheme ی (1)دا ڕوونکراوەتەوە. بەهۆی ئەوەی کارڵێکی دایۆزینیەکە گەرمی دەرە و زۆربەی خوێی دایۆزۆنیۆمەکە ناجێگیرە، پێویست دەکا بەئاگاییەوە کۆنترۆڵی پلەی گەرمیـــەکە بکرێ. دایەزۆناندن بە ئاسایی لە 0ی سەدی ڕوودەدات. پلەی گـــەرمی نزم سوود بەخشە لەبەر دوو هۆکار، یەکەم جێگیری ترشی نایترۆزی سەربەست زیاترە، وە دووەم زۆربەی ئاوێتەکانی دایەزۆ خواســـتیان بۆ جێـــگیری مامناوەند هەیە. لەم بارەدا ئاوێتەی دابەزۆ تا ڕایەك جێـــگـــیرە، پلەی گەرمی بەرزتر دەکرێ بۆ دایەزۆناندنەکە بەکاربهێنرێ وە 10 تاوەکو 15 پلەی ســـەدی بۆ ترشی سەلفەلینیك.



هێڵکاری 1: میکانیزمی ڕێتێچوو بۆ کارلێکەکە.

٥- دیاریکردنی ڤیتامین بی١ لەنێو دەرماندا - Determination of Vitamin B1 in pharmaceuticals

دەرئەنجامی شیکاری چەند ژەمێك كە ڤـــیتامـــــین بی1 (هایدرۆكلۆریدی ثیامین) یان تێدابوو بـــە هـــــەردوو بیردۆزی سەرەکی و پێـــشنیــــازکراو بەراوردکاریەکی خستە ئاراوە.شیکاری ئەژماریانـــەی دەرئەنـــجامەکە بە بەکارهێنانی تێستی تی و ڕێژەی جیاجیای تێستی ئێف، نیـــشانیدا هیــــچ جیاوازیەکی بەرچاو نییە لە نێوان کارپێــــکراوی هەردوو بیـــردۆزەکە بە فەرامۆشکردنی وردی ڕێکی (خشتەی 4). ڤیتامین بی1 بە زۆری بە شێوەی حەپ و دەرزی دادەڕێژرێت. لەبەرئەوە، پشکنین بۆ کاریگەری حــەپە باو و زیادکراوەکان کرا بۆ سەر هەنگاوەکان. بینرا کــە گلوگۆز، لاکــــتــــۆز، سوکەرۆز، نیشاستە و ئەساسیە هیچ کاریگەری ناخاتە سەر تاقیکارییەکە (خشتەی 5). وە هەروەهاش، هەنگاوەکان بە سەرکەوتوویی جێبەجێکران لەسەر ئامادەکارییـــە دەرمانـــییەکان. بەهـــای گــــەڕاوەی recovery دەستکەوتوو دڵخۆشکەرە و یەکانگیرە لەگەڵ بەهای دەستوری دەرمانیی بەریتانی بیردۆزی (B.P) (خشتەی 4).

خشتەی 4: کاریگەرە لاوەکیەکان لەسەر ڕێژەی دەستکەوتووی هایدرۆکلۆیدی ثیامینن بە بەکارهێنانی بیردۆزی پێشنیارکراو.

S.D%	*بەهای گەڕاوە %	بڕێك لەسەر (10mg) دەرمان	مادە لاوەکیەکان
0.30	99.3	0.5	گلوکۆز
0.32	98.6	0.5	لاکتۆز
0.33	99.1	0.5	سوکەزۆر
0.38	97.5	0.5	نیشاستە
0.51	96.0	0.1	سیترەیتی مەگنیسیۆم

* واتا سێجار دیاریکردن

بەرەنجام

بیردۆزی ڕۆشنە شەبەنگ بیردۆزێکی سادە ورد و هەستیارە بۆ دیاریکردنی ڤیتامین بی1 (هایدرۆکلۆریدی ثیامین) لە ئامادەکارییە دەرمانییەکاندا. هەموو گیراوەکان زۆترین هەڵمژینیان لە (490nm) بوو.

ترشی سەلفەلینیك – Sulfalinic acid: ئاوێتەیەکی ئەندامیە و شێوگەکەی $H_3NC_6H_4SO_3$، بارگەی هاوتا (zwitterion) ی هەیە و لە کیمیای ئەندامیدا بەکاردەبرێت.

هەڵمژینی مۆلاری - The molar absorptivity: یاخود هـــــاوکۆلـــــکەی هەڵمزرینی مۆلاري، بریتیە لە پێوانەی مادە کیمیاییەکان کەتا چەند تواناى کەمکردنەوەی ڕووناکیان هەیە بە درێژە شەپۆڵی پێدراو.

بەهای هەستیاری ساندڵ - sandell sensitivity: کەمـــترین خـــەستیە بە (ppm) لە ئەنجامی هەلمژەری 0.001 لە (0.1cm) درێژیدا.

دەستووری دەرمانی بەریتانی - British pharmacopoeia: کۆکراوەیەکی گەورەی پێوانەییە بۆ دەرمان کە لە بەریتانیا بەکاردهێنرێت.

ڕۆشنە شەبەنگ پێوی - spectrophotometric method: بریتیە لە پێـوانی ئەوەی تا چەند مادە کیمیاییەکان ڕووناکی هەڵدەمژن بەپێـوانی بەتینی (intensity) ئەو گورزە ڕووناکیە کە بەنێو نموونەیەکی گیراوەدا تێپەڕدە کرێت.

هێڵکاری پێوانەیی - calibration graph: هێڵـــکارییەکی پێوانەیـــیە بۆ دۆزینەوەی خەســـــتی مادەیەکی نەزانراو بە بـــەراوردکاری لەگـــەڵ خەستییە زانراوەکەی.

بەدایۆنایزکردن – diazotization: کردەی گۆڕینی ئەرۆمــاتی ئـــــەمینی سەرەتاییە بۆ خوێنی دایەزۆنیۆم.

1-Analytical Methods Committee, Analyst, 2000, 125,353.
2-Chen H.N. , Zhu J.P. , Cao X.X., and Fang Q. J. ;Analyst, 1998,123, 1017.
3-Macias R.F.M . ;Appl. Microbiol. 1957,5, 249.
4-Echols R.E. , Miller R.H., Winzer W. , Carmen D.J., and Ireland Y. R ;J.Cromatogr.,1983,262,257.
5-Din E., Kokdil G., and Onur F.; J.Phrm. Biomd. ,Anal. , 2000,22(6),915.
6- Liu S., Zhang Z.,Luo H. , and Zheng W. ;J.Phrm. Biomd. ,Anal. , 2002,30(3), 685.
7- Aniceto C. ,Pereira A.V. , Costa-neto C.O. , and Fatibello-Filho O. ; Lab. Robotics Automat , 1999,11(1),45.
8- Fabio R.P. , Rocha O.F. , Boaventura F.R.; Talanta , 2003, 59(1&2),191.
9- Anderi F.D. , and Martinez J.C. ; Talanta ,1994 , 41(12), 2147.
10- Costa-Neto C.O. , Prerira A.V., Aniceto C. , and Fatibello-Filho O. ; Talanta, 1999 , 48(3),659.
11-Qiu-Ying C., Dong-Hui L. , Huang-Hao Y. , Qing-Zhi Z. , Hong Z. , and Jin-Gou X. ; Analyst , 1999 , 124 , 771.
12-Du J. and Li Y. , and Lu J. ; Talar , 2002 , 57(4), 661.
13-Wasielczuk A. , Icardo M. , Catal G.M. , Garcia M. , and Calayud T.M. Analytical Letters , 2004,37(15), 320
14- Petukhova I.Y. , Zarechenski M. ,and Gaidukevich A.N. ; J.Anal.Cher , 1996, 51, 934.
15- Ciszwski A. , and Wang J. ; Analyst , 1992 , 117, 985.
16-Belal S. , El-Sayed A. , and Soliman S.A.; Talanta , 1978 , 25 , 290.
17-Younis Th. I., Ph.D. Thesis , Mos University , 1998, pag : 9.
18- Al-Talib S.M. , J. Edu. Sc. 1997, 27, 15.
19- The British Pharmacopoeia (B.P. Medicinal and Pharmaceutical Substance; Vol.I , 2002, CD-Rom.
20-Calcutt R. , and Paddy R. ; " Statistical For Analytical Chemistry" Chapman and Hall , London, 1983.
22-Sanders D.H. , and Murphy A.F., English Statistic ", MC Graw Hill , New Yourk 1979.